

GP 3736



IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

RECEIVED

In re

U.S. application: Yasuhiro SANDO and Yasuhisa FUJII
 For: MICROCHIP
 U.S. Serial No.: 09/988,488
 Confirmation No.: 8768
 Filed: November 20, 2001
 Group Art Unit: 3736
 Examiner: To Be Assigned

JUL 18 2002
 TECHNOLOGY CENTER R3700

~~COPY OF PAPERS
ORIGINALLY FILED~~

2/19/03

Assistant Director
For Patents

Washington, D.C. 20231

Dear Sir:

I hereby certify that this correspondence is being deposited with the United States Postal Service as first class mail in an envelope addressed to: Assistant Director For Patents, Washington, D.C. 20231 on:

FEBRUARY 4, 2002

Date of Deposit

DOUGLAS A. SORENSEN

Name of Applicant, Assignee, or Registered Representative



FEBRUARY 4, 2002

Date of Signature

CERTIFIED COPY OF PRIORITY DOCUMENTS

Submitted herewith is a certified copy of Japanese Patent Application No. 2000-355960, filed November 22, 2000, and Japanese Patent Application No. 2001-248884, filed August 20, 2001. Priority benefit under 35 U.S.C. § 119/365 for these Japanese patent applications is claimed for the above-identified United States patent application.

Respectfully submitted,

By: 

Douglas A. Sorensen

Registration No. 31,570

Attorney for Applicants

DAS/fis

SIDLEY AUSTIN BROWN & WOOD LLP
 717 North Harwood, Suite 3400
 Dallas, Texas 75201-6507
 (214) 981-3328 (Direct)
 (214) 981-3300 (Main)
 (214) 981-3400 (Facsimile)
 February 4, 2002

RECEIVED
JULY 3 2002
TECHNOLOGY CENTER R3700

日本特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2000年11月22日

出願番号

Application Number:

特願2000-355960

出願人

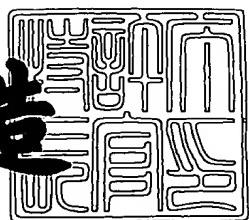
Applicant(s):

ミノルタ株式会社

2001年 9月12日

特許長官
Commissioner,
Japan Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2001-3084069

【書類名】 特許願
 【整理番号】 174067
 【提出日】 平成12年11月22日
 【あて先】 特許庁長官殿
 【国際特許分類】 G01N 21/00
 G01N 33/50

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区安土町二丁目3番13号大阪国際ビル ミノルタ株式会社内

【氏名】 山東 康博

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区安土町二丁目3番13号大阪国際ビル ミノルタ株式会社内

【氏名】 藤井 泰久

【特許出願人】

【識別番号】 000006079

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区安土町二丁目3番13号大阪国際ビル

【氏名又は名称】 ミノルタ株式会社

【代理人】

【識別番号】 100062144

【弁理士】

【氏名又は名称】 青山 葵

【選任した代理人】

【識別番号】 100079245

【弁理士】

【氏名又は名称】 伊藤 晃

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 013262

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9808001

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 マイクロチップ

【特許請求の範囲】

【請求項1】 検体と試薬とを反応させる微小な流路を有するマイクロチップであって、

上記流路内で発生した光を集光し、マイクロチップの外部に出射させる集光手段を備えたことを特徴とする、マイクロチップ。

【請求項2】 上記集光手段は、上記流路内で発生した光を上記流路の延在方向に集光することを特徴とする、請求項1記載のマイクロチップ。

【請求項3】 上記流路を形成する面に反射膜を形成したことを特徴とする、請求項2記載のマイクロチップ。

【請求項4】 その一端が、上記流路の中間部の少なくとも一方の端に隣接し、かつ、該一端から、大略、上記流路の上記中間部の接線方向に延在し、その他端がマイクロチップの外部に露出し、上記一端と上記他端との間を光が通ることができる導光部をさらに備えたことを特徴とする、請求項1、2又は3記載のチップ。

【請求項5】 上記集光手段は、上記流路に沿って配置されたレンズであることを特徴とする、請求項1記載のマイクロチップ。

【請求項6】 請求項1乃至5記載のマイクロチップを用いた反応検出装置であって、

上記マイクロチップの上記流路からの光であって上記マイクロチップ内において集光された光を上記マイクロチップの外部で受光する受光手段を備えたことを特徴とする、反応検出装置。

【請求項7】 微小な流路を有するマイクロチップを用いて検体と試薬の反応を検出する反応検出方法であって、

上記マイクロチップの上記流路内において、上記検体と上記試薬とを反応させる第1のステップと、

上記第1の反応により、上記流路内で発生した光を、上記マイクロチップ自体により集光して上記マイクロチップの外部に出射させる第2ステップと、

該第2ステップで出射した光を受光し、上記反応を検出する第3ステップとを備えたことを特徴とする、反応検査方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、マイクロチップに関し、詳しくは、マイクロチップ内で検体と試薬とを反応させたときの光を検出するためのマイクロチップに関し、例えば血液凝固検査、免疫学的検査、生化学的検査、遺伝子検査等に好適に使用することができるマイクロチップに関する。

【0002】

【従来の技術】

現状の臨床検査では、免疫学的検査や生化学検査で抗原抗体反応や酵素反応を用いて目的の物質を検出している。検出は主に光学的に行われていて、励起光により発した蛍光を検出する方法や、液の濁度を検出する方法（比濁法）などがある。検出は、反応液にレーザーやLED、ハロゲンランプなどで光を当て、フォトダイオードやフォトマルチプライヤーなどで捕らえるのが一般的である。例えばマーカーにフルオレシンを用いた場合、励起光波長495nmに対して測定波長515nm付近を用いる。

【0003】

例えば、抗原抗体反応を蛍光で検出する場合、容器に図10(a)に示した抗体Aを固定し、図10(b)に示すように、検体中の抗原Bと抗体Aとを結合させ、複合体を形成する（1次反応）。未反応液を除去後、標識抗体Cを加え、図10(c)に示すように、標識抗体Cと、抗原Bおよび抗体Aの結合体とが結合した複合体を形成する（2次反応）。未反応液を除去した後、図4(d)に示すように、HPPA(p-Hydroxyphenylpropionic acid、p-ヒドロキシフェニルプロピオン酸)基質Eを含む基質液を加えると、結合した酵素(POD)により蛍光物質Eが生成される（酵素反応）。そして、図4(e)に示すように、蛍光物質Eに、例えば323nmの励起光を照射し、生じた蛍光を410nmで測定することにより、高感度でPODの定量が可能に

なる。

【0004】

従来の大型又は中型の反応検出装置では、例えば図9に示すように、キュベット4を用い、免疫学的検査であれば抗原抗体反応を利用し標識抗体（発光したり蛍光を発したりする）を添加した反応液5に光源2からの励起光2aを照射して生じる蛍光5aや、反応液5自体が発する発光を検出部6で検出する。生化学検査であれば比色法や比濁法が用いられている。凝固検査では散乱光検出が一般的である。

【0005】

例えば、東ソー社のAIA-600II等の免疫学的検査器は、抗原抗体反応を利用した標識抗体による蛍光を検出するが、検体・試薬の量が多い。また、Sysmex社のCA-7000等の血液凝固検査器は、入射光による散乱光の変化を検出することで、血液凝固の検出を行うが、キュベットを用いており、検体・試薬の量が多い。

【0006】

ところで、最近、マイクロマシン技術を応用して、化学分析や合成などの機器・手法を微細化して行う μ -TAS (μ -Total Analysis System) が注目されている。従来の装置に比べ微細化された μ -TASでは試料の量が少ない、反応時間が短い、廃棄物が少ないなどのメリットがある。また、医療分野に使用した場合、検体（血液）の量を少なくすることで患者への負担を軽減でき、試薬の量を少なくすることで検査のコストを下げることができる。さらに、検体・試薬の量が少ないことから反応時間が大幅に短縮され検査の効率化が図れる。このようなことから、免疫学的検査、生化学的検査、遺伝子検査等に応用する価値は大きい。また、検体・試薬量が減るので血液凝固検査にも応用できる。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

例えば、前述の抗原抗体反応を蛍光で検出するような場合、検体の量が多いと検出すべき光の量は多いが、検体の量が減ると検出すべき光の量も減り、反応を

捕らえるのが困難になってくる。マイクロチップのような微小な流路内での反応を検出する場合、検体量が少ないため検出光が足りなく、検出感度が低下してしまう。フォトマルチプライヤーや冷却CCDなどの大掛かりな装置を用いれば検出感度を上げることはできるが、それでは反応検出装置が大きくなってしまい、また高価な物になってしまう。

【0008】

したがって、本発明が解決しようとする技術的課題は、マイクロチップを用いる反応検出装置を小型化することができるマイクロチップを提供することである。

【0009】

【課題を解決するための手段および作用・効果】

本発明は、上記技術的課題を解決するために、以下の構成のマイクロチップを提供する。

【0010】

マイクロチップは、検体と試薬とを反応させる微小な流路を有するタイプのものである。マイクロチップは、上記流路内で発生した光を集光し、マイクロチップの外部に出射させる集光手段を備える。

【0011】

上記構成によれば、マイクロチップの流路内で発生した光を集光する集光手段をマイクロチップ自体に設けることにより、流路内における検体と試薬との反応による微弱な光を検出することが可能になる。従来の装置のように、微弱な光を検出するために反応検出装置に集光部品や感度を高めた大型の検出器などを設ける必要がなくなる。

【0012】

したがって、マイクロチップを用いる反応検出装置を小型化することができる。

【0013】

具体的には、マイクロチップは、以下のように種々の態様で構成することができる構成する。

【0014】

好ましくは、上記集光手段は、上記流路内で発生した光を、上記流路の延在方向に集光する。

【0015】

上記構成によれば、流路内で発生した光を流路の延在方向に集光することができる。流路の一部から垂直方向に出射する光のみを用いて検出を行う場合に比べ、光を検出する対象となる流路の長さを長くすることができるので、微弱な光であっても累積することにより検出することが可能となる。

【0016】

具体的には、例えば流路に沿って適宜な屈折率の層を形成し、流路から外れる方向に進んだ光が反射されて流路内に戻るようとする。

【0017】

好ましくは、上記流路を形成する面に反射膜を形成する。

【0018】

上記構成によれば、流路内で発生した光が、流路から外れる方向に進んでも反射膜で流路内に戻るように反射されるので、全体的に見ると、流路内で発生した光は流路に沿って進行し、集光する。反射膜によれば、効率的に集光することができる。

【0019】

好ましくは、マイクロチップは、導光部をさらに備える。上記導光部の一端は、上記流路の中間部の少なくとも一方の端に隣接する。上記導光部は、上記一端から、大略、上記流路の上記中間部の接線方向に延在する。上記導光部の他端は、マイクロチップの外部に露出する。上記導光部の上記一端と上記他端との間は、光が通ることができる。

【0020】

上記構成によれば、例えば流路の中間部で発生した光が導光部からマイクロチップの外部に出射するようにしたり、あるいは、マイクロチップの外部から導光部を介して流路の中間部に励起光が入射したりするようになることが可能である。例えば、流路に検体や試薬を入れたり、空気を抜いたりするために、流路の

端部を折り曲げても、光を流路の中間部に入射させたり出射させることが簡単な構成で可能になる。上記導光部は、例えば光ファイバーのように、その中心部とその周囲とで屈折率が異なるようにして構成することができる。

【0021】

上記集光手段は、上記流路内で発生した光を、上記流路の延在方向と直角方向に集光するようにしてもよい。

【0022】

好ましくは、上記集光手段は、上記流路に沿って配置されたレンズである。

【0023】

上記構成によれば、流路内で発生した光をレンズにより集光して、マイクロチップの外部に出射することができる。

【0024】

また、本発明は、上記各構成のマイクロチップを用いた反応検出装置を提供する。

【0025】

すなわち、反応検出装置は、上記各構成のマイクロチップを用いる。反応検出装置は、受光手段を備える。上記受光手段は、上記マイクロチップの上記流路からの光であって上記マイクロチップ内において集光された光を、上記マイクロチップの外部で受光する。

【0026】

上記構成によれば、マイクロチップからの光をマイクロチップ自体が集光するので、反応検出装置には集光のための特別な手段を設ける必要がない。したがって、反応検出装置を小型化することが可能である。

【0027】

また、本発明は、マイクロチップを用いた反応検出方法を提供する。

【0028】

すなわち、反応検出方法は、微小な流路を有するマイクロチップを用いて検体と試薬の反応を検出するタイプの反応検出方法である。反応検出方法は、上記マイクロチップの上記流路内において、上記検体と上記試薬とを反応させる第1の

ステップと、上記第1の反応により、上記流路内で発生した光を、上記マイクロチップ自身により集光して上記マイクロチップの外部に出射させる第2ステップと、該第2ステップで出射した光を受光し、上記反応を検出する第3ステップとを備える。

【0029】

上記方法によれば、マイクロチップの微小な流路内で発生した光を、マイクロチップ自身により集光した後、マイクロチップの外部で受光して検出するので、マイクロチップの外部において、マイクロチップ内での反応による光を集光したり、マイクロチップ内での反応による光に対して検出感度を高めたりすることが不要となる。したがって、反応検出装置を小型化することが可能となる。

【0030】

【発明の実施の形態】

以下、本発明の各実施形態に係るマイクロチップについて、図面を参照しながら説明する。

【0031】

まず、マイクロチップの基本的な構成について説明する。

【0032】

基本的な構成のマイクロチップ10は、図1の模式的に図示した平面図および図2の断面図に示すように、大略、一点で合流する微小な流路21, 23, 25が基板10b上に形成され、その上をカバー10aで覆われてなる。

【0033】

例えば、マイクロチップ10の外形寸法は約20×40×0.5mmである。流路21, 23, 25の幅は200μm、深さは約100μmである。

【0034】

詳しくは、図1に示すように、流路21の端部には、液状の検体を供給するための検体供給口20が設けられている。流路23の端部には、液状の試薬を供給するための試薬供給口22が設けられている。流路25の端部には、排出口28もしくは空気抜き穴28が設けられている。

【0035】

検体と試薬は、流路21, 23を流れ、点線で示した合流部24で合流し、混合するようになっている。例えば、合流した検体および試薬は、幅が狭い流路25内を層流状態で流れ、拡散により混合する。合流後、流路25を空気抜き穴28に向けて移動し、点線で示した検出部26において、検体と試薬との反応が検出される。

【0036】

検体と試薬との反応を検出するため、マイクロチップ10は、不図示の反応検出装置に装填される。反応検出装置（本体）は、例えば図2に示すように、マイクロチップ10の検出部26の上部にLEDなどの光源30を備え、マイクロチップ10の下部にフォトダイオードなどの光検出器40を備え、検出部26からの光を光検出器40で受光するようになっている。図2に示すように、流路25内での反応の検出を行う光路長（反応液を光が通る長さ）は、約 $100\mu m$ であり、非常に短い。

【0037】

このような場合、検体量が少なかつたり、反応が弱かつたりして、検出すべき光の強度が微弱であると、検出が困難になる。そこで、本発明の各実施形態のマイクロチップは、以下のように構成している。なお、以下では、図1および図2の基本構成との相違点を中心に説明し、同様の構成部分には同一の符号を用いることとする。

【0038】

本発明の第1実施形態のマイクロチップ12は、図3の断面図に示したように、光路を流路25の延在方向、すなわち流れ方向（矢印99で示す）にとり、流路25全体から検出すべき光を集光するようにしている。流路25の流れ方向99の長さは約20mmあるから、図2の $100\mu m$ の約200倍の光路長となり、検出光量は大幅に増加する。

【0039】

流路25までの光の伝達には、光導波路を用いる。光導波路のコア部12dには SiO_2 、クラッド部12cにはゲルマニウムもしくはフッ素をドープした SiO_2 を使用する。 SiO_2 は親水性であるので、マイクロチップ12への液充填

が行いやすいという利点もある。

【0040】

光導波路は、マイクロマシニングプロセスでマイクロチップ12に流路25等とともに一括して作り込んでしまうことができる。すなわち、シリコンの基板12b上に光導波路の形にSiO₂をパターニング（スパッタ）してコア部12dを形成し、その上にドープしたSiO₂を成膜してクラッド部12cを形成する。それらを流路の形にパターニングする。例えば、イオンを基板に加速することで異方性のドライエッチングを行うドライエッチング方法であるRIE（Reactive Ion Etching、反応性イオンエッチング）や、RIEよりさらに深溝加工ができる異方性のドライエッチング方法であるICP（Inductively Coupled Plasma、高周波誘導結合型プラズマ）でパターニングする。そして、最後にガラスのカバー12aを接合する。

【0041】

マイクロチップ12が装填される不図示の反応検出装置は、図3に示すように、光導波路のコア部12dから流路25内に光を照射するための光源32と、光導波路のコア部12dを介して出射した光を受光する光検出器42とを備える。光源32には、Arレーザーなどのレーザー光やLEDを使用する。光検出器42には、フォトダイオードなどを使用する。

【0042】

なお、光導波路には、ポリイミドを使用することもできる。カバー12aには、PMMA（ポリメタクリル酸メチル）などの樹脂やシリコンを使用することができる。光導波路の代わりに、光ファイバーを埋め込んで用いることも可能である。

【0043】

図4の断面図は、本発明の第2実施形態のマイクロチップ14を示す。

【0044】

マイクロチップ14は、流路25の上下面に反射増強用のミラーを成膜し、流路25内を上下方向に光を反射させながら流路25の延在方向に進行させることで、光路長を長くするようにしている。反射用膜14cとして、金属膜（Ag、

Au, Alなど)をスパッタや蒸着等で、マイクロチップ14のカバー14aおよび基板14bに成膜する。さらにその上に、保護膜14dとして、SiO₂を成膜する。SiO₂は親水性であるので、マイクロチップ12への液充填が行いやすいという利点もある。

【0045】

マイクロチップ14が装填される不図示の反応検出装置は、マイクロチップ14の流路25の一端から光を入射させる光源34と、流路25の他端から出射した光を受光する光検出器44とを備える。光源34には、Arレーザーなどのレーザー光や、LEDを使用する。光検出器44には、フォトダイオードなどを使用する。

【0046】

光源34からマイクロチップ14の流路25内に入射された光は、反射膜14cで反射されながら光検出部44へと進む。このときの反射の回数が多いほど、光路長が長くなり、反応光の検出限界も伸びる。例えば200回反射させれば、200倍の光路長となる。

【0047】

マイクロチップ14は、流路25の他端に隣接して配置されたレンズ45を有する。レンズ45は、流路25からの光を集光して光検出器44へ導く。レンズ45をマイクロチップ14に設けているので、反応検出装置側に集光のための部品を設けなくてもよい。

【0048】

図5の断面図は、本発明の第3実施形態のマイクロチップ16を示す。

【0049】

マイクロチップ16は、流路25の裏側部分(基板16b側)を凸レンズ状に加工した集光レンズ部16cを有し、流路25の流れ方向(約20mm)の光を集めることができるようになっている。マイクロチップ16の基板16bは、PMMAやPDMSなどの樹脂で作り、集光レンズ部16cも含めて一体成形するので、部品点数は増えない。

【0050】

マイクロチップ16を装填する不図示の反応検出装置は、光源36と、光検出器46とを備える。光源36は、マイクロチップ16のカバー16a側に配置され、マイクロチップ16の流路に励起光を照射する。光検出器46は、基板16bの集光レンズ部16cに対向して配置され、集光レンズ部16cで集光された流路25からの光を受光するようになっている。集光レンズ部16cをマイクロチップ16と一体成形しているので、反応検出装置側に集光のための部品を設けるなくてもよい。

【0051】

図5では、流れ方向に集光レンズ部16cを形成しているが、流路25の短手方向に集光レンズ部を形成し、光検出器としてライン型のフォトディテクターを配置すれば、流路25の流れ方向の反応の変化（時間軸変化）を検出することができる。

【0052】

以上説明した各マイクロチップ12, 14, 16は、検体量が少ないとによる検出光の低下を、流路25の全域から集光したり、検出光路長をかせぐなどすることで、検出感度を上げることができる。検出感度を上げる手段がマイクロチップ12, 14, 16に組み込まれているので、マイクロチップ12, 14, 16の反応を検出するための反応検出装置は、大掛かりな物にならず、安価におさえることができる。

【0053】

また、微少な流路25内での反応を検出するためのものであるので、検体（血液）・試薬は極微量でよい。液が極微量であるので反応が早く検査にかかる時間が大幅に短縮され、検査の効率化が図れ、特に緊急を要する場合にメリットがある。

【0054】

さらに、反応検出装置を小型化できるので、POC（Point of Care）に適しており、家庭内での検査や救急車内などの緊急を要する場合にも使用することができる。

【0055】

なお、本発明は上記各実施形態に限定されるものではなく、その他種々の態様で実施可能である。

【0056】

例えば、2試薬系や3試薬系にすることもできる。図6に示したように、検体供給口70と、2つの試薬供給口72、74とを設け、排出口78に向けて検体および試薬を流路71、73、75、76、77に沿って流し、合流させ混合させて反応させるようにしてもよい。その場合、最終的に混合した液が流れる流路77内での光を集光するようにすることが好ましい。

【0057】

また、図7に示したように、流路81、83、85にマイクロポンプ80a、82a、84aを配置し、供給口80、82、84から供給された検体および試薬を排出口88に向けて送液し、流路86、87で合流させて混合し、反応させるようにしてもよい。

【0058】

また、試薬は液体である必要はなく、固体の試薬を流路内に固定しておいてよい。例えば図8に示したマイクロチップ19のように、検体供給口90と空気抜き穴96との間の流路91の適宜位置に、試薬固定部94を設け、試薬固定部92に、固体の試薬3を仮固定しておく。試薬固定部94に仮固定した試薬は、マイクロポンプ92で送り出された検体に触れると、例えば剥離したり溶解したりして、検体と混合するようにする。

【0059】

また、蛍光による発光ではなく、電気化学発光による発光を検出するようにしてもよい。その場合、励起のための光源は不要となるが、マイクロチップの流路に沿って電極を設けることが必要である。

【図面の簡単な説明】

【図1】 一般的なマイクロチップの平面図である。

【図2】 図1のマイクロチップの断面図

【図3】 本発明の第1実施形態のマイクロチップの断面図である。

【図4】 本発明の第2実施形態のマイクロチップの断面図である。

【図5】 本発明の第3実施形態のマイクロチップの断面図である。

【図6】 変形例のマイクロチップの平面図である。

【図7】 他の変形例のマイクロチップの平面図である。

【図8】 さらに別の変形例のマイクロチップの平面図である。

【図9】 従来例の検出方法の説明図である。

【図10】 蛍光検出の説明図である。

【符号の説明】

10, 12, 14, 16, 17, 18, 19 マイクロチップ

12d コア部（導光部、集光手段）

14c 反射膜（集光手段）

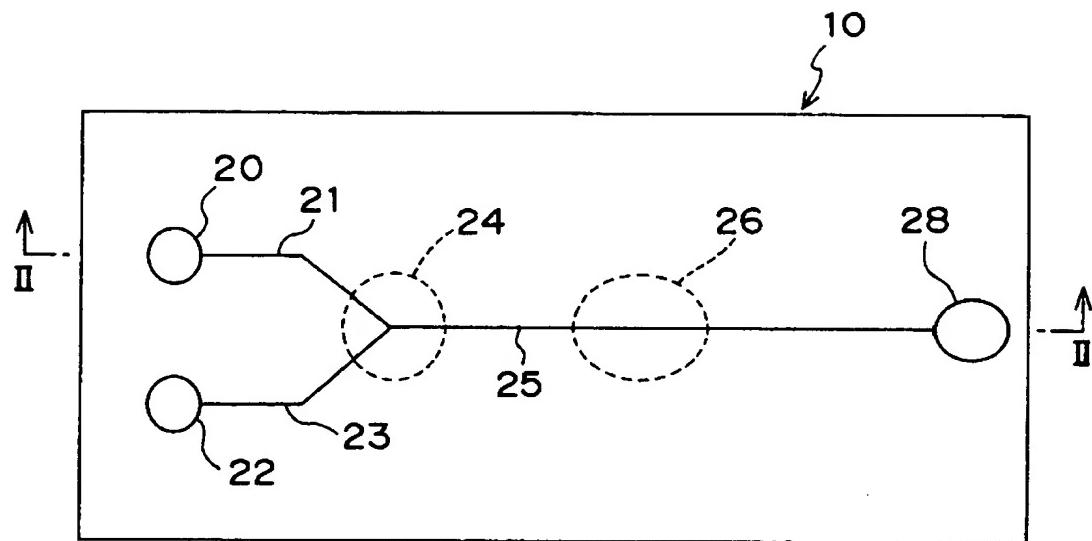
16c 集光レンズ部（レンズ、集光手段）

25 流路

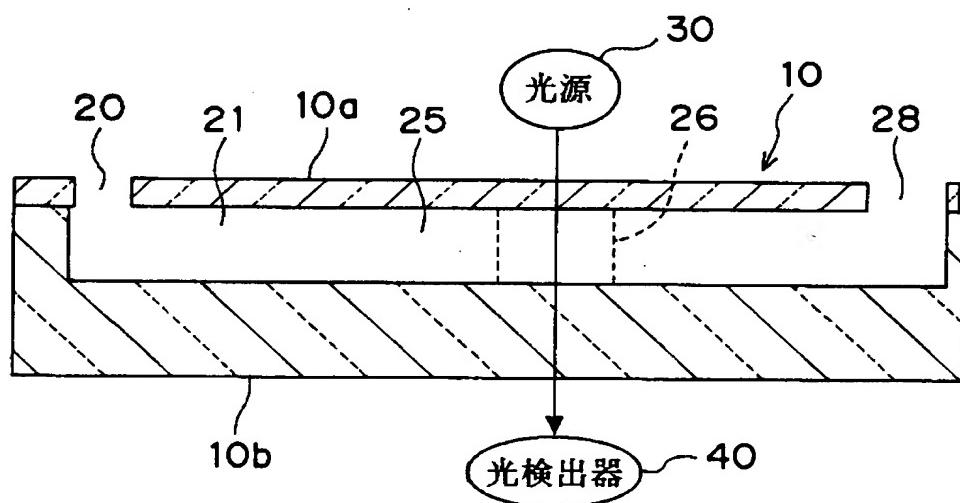
42, 44, 46 光検出器（受光手段）

【書類名】 図面

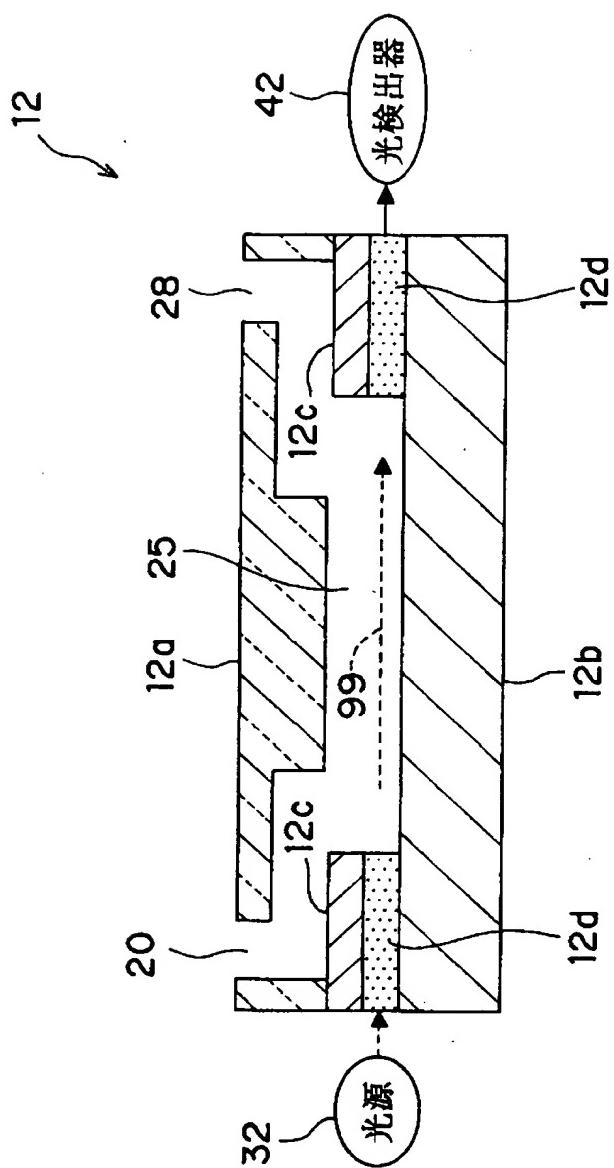
【図1】



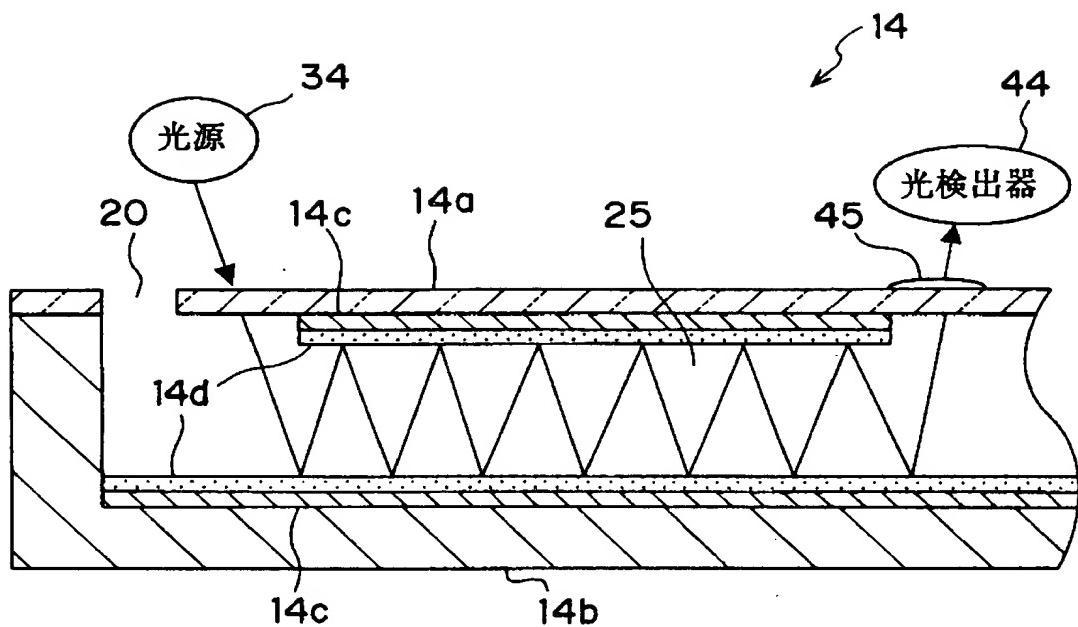
【図2】



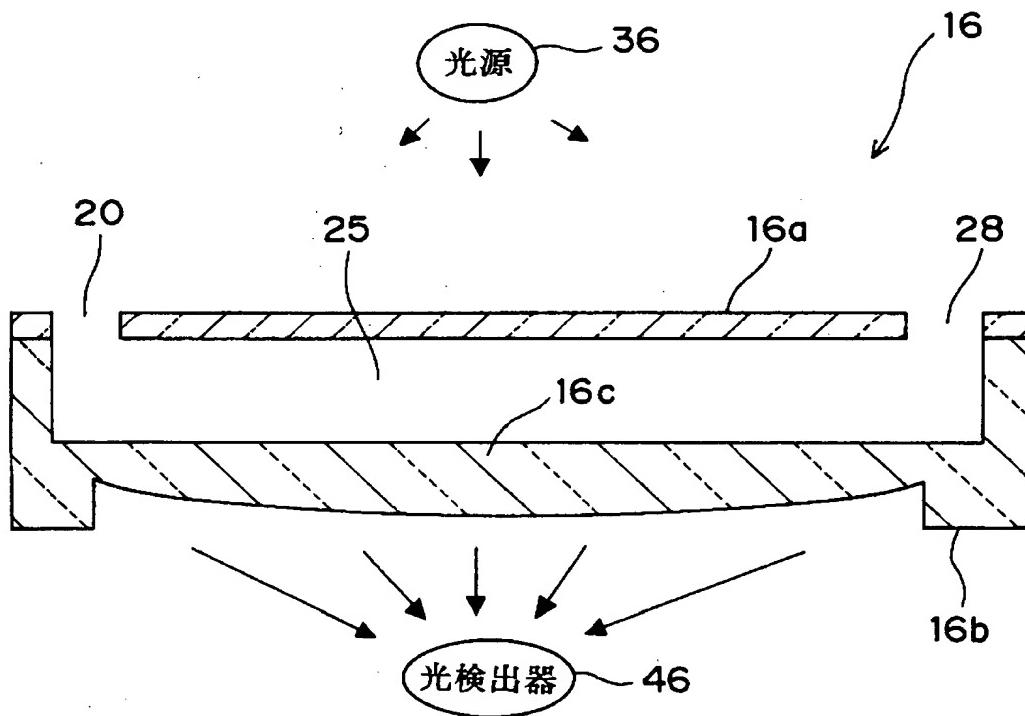
【図3】



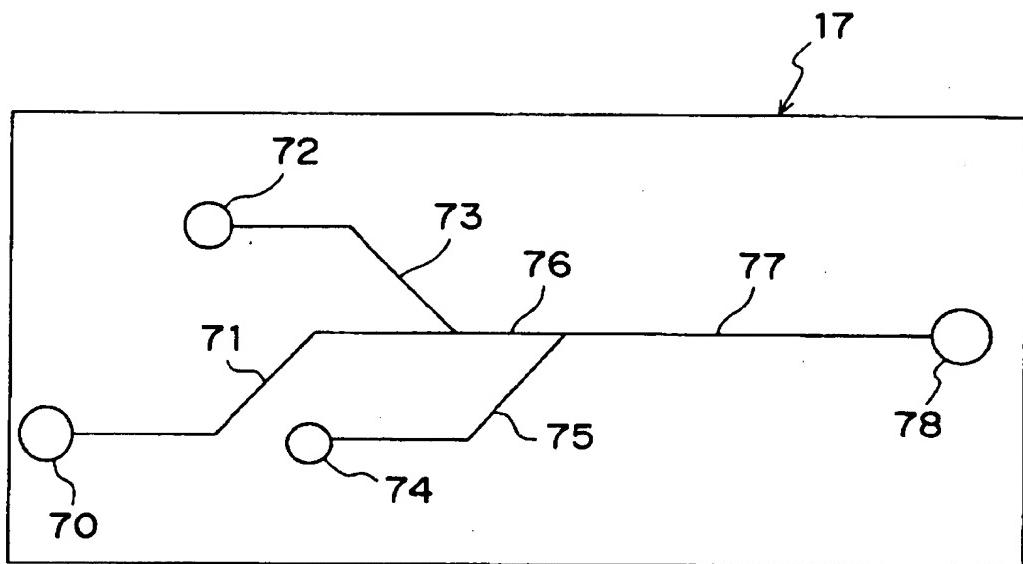
【図4】



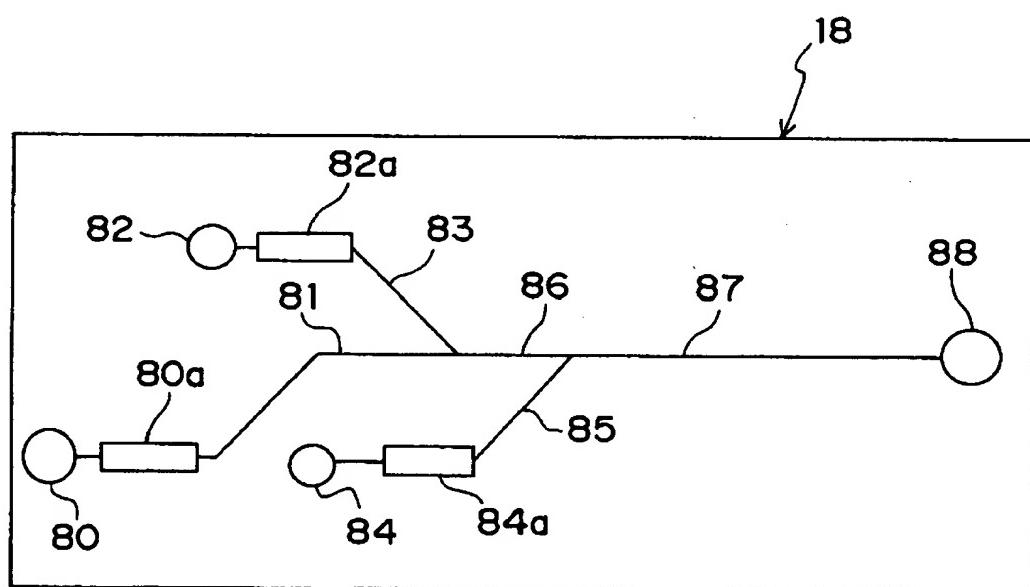
【図5】



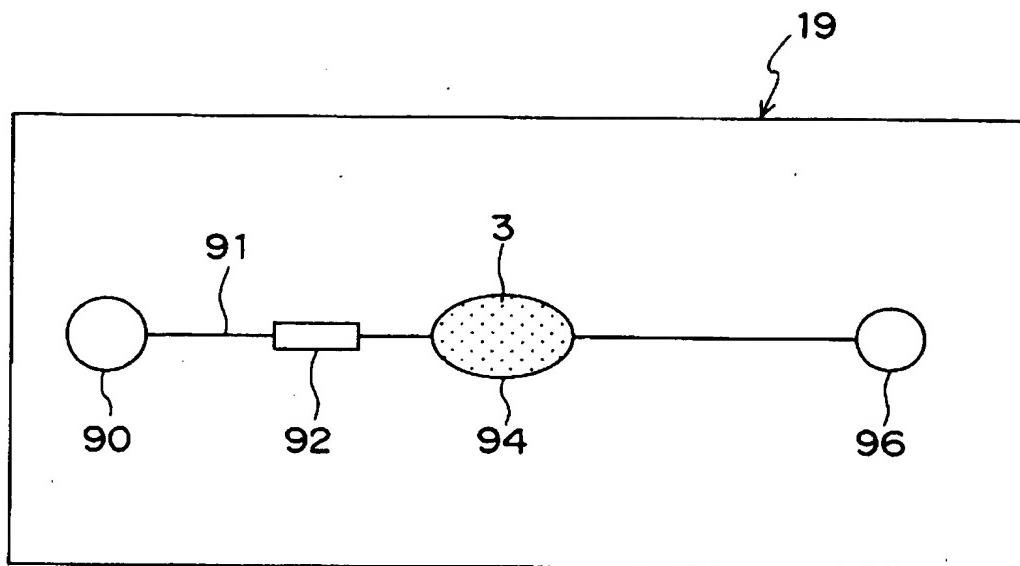
【図6】



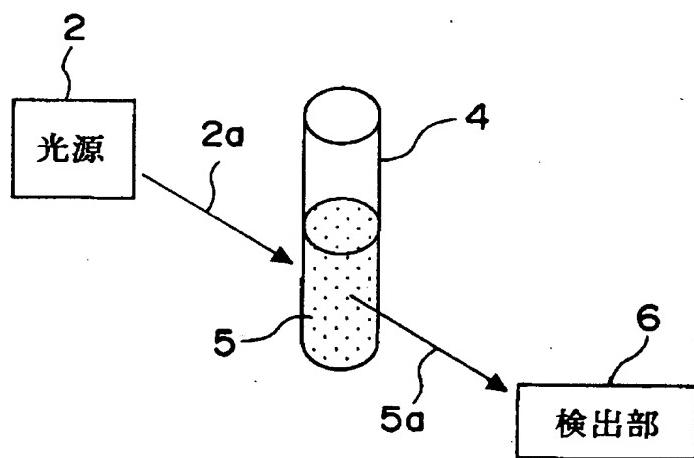
【図7】



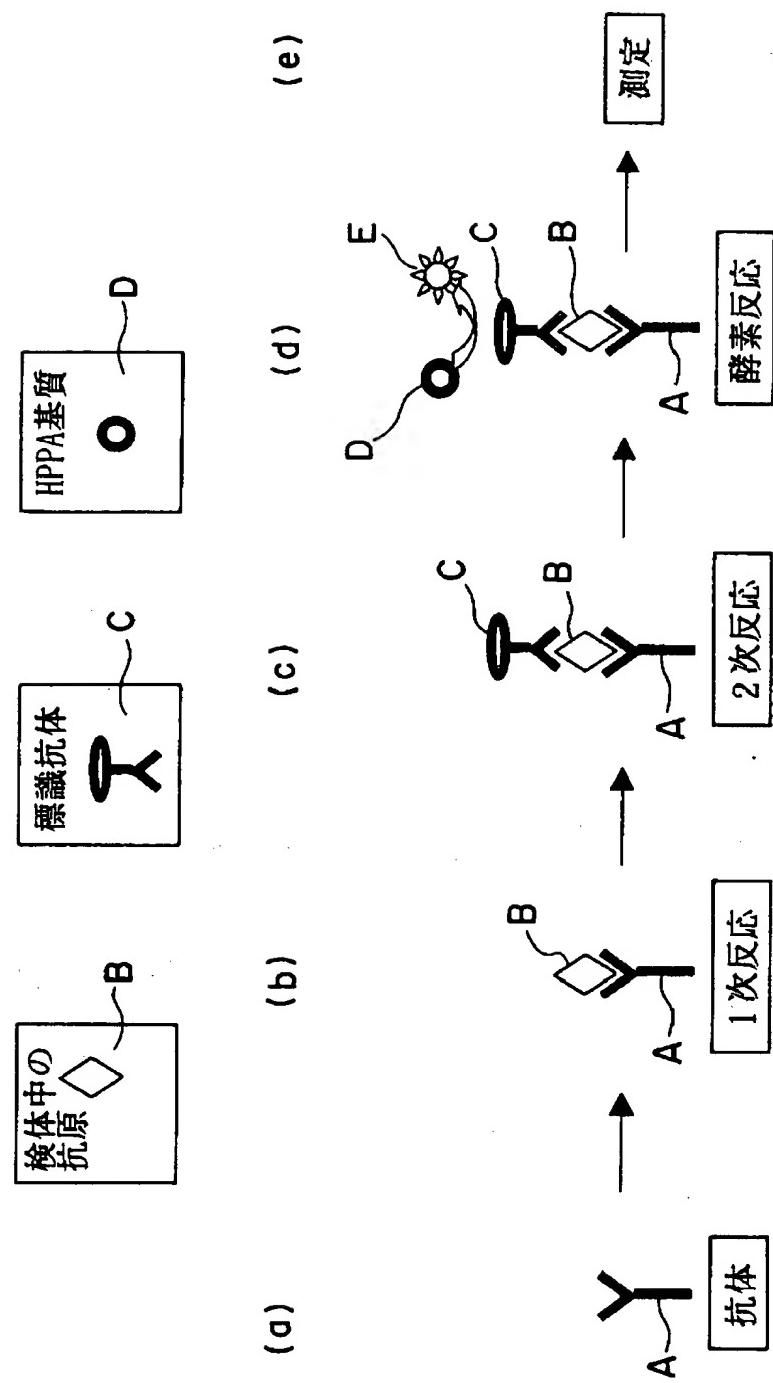
【図8】



【図9】



【図10】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 マイクロチップを用いる反応検出装置を小型化することができるマイクロチップを提供する。

【解決手段】 マイクロチップ12の流路25a内で発生した光を、マイクロチップ自体により、例えば流路25aの延在方向99に集光し、マイクロチップの外部に出射させる。

【選択図】 図3

出願人履歴情報

識別番号 [000006079]

1. 変更年月日 1994年 7月20日
[変更理由] 名称変更
住 所 大阪府大阪市中央区安土町二丁目3番13号 大阪国際ビル
氏 名 ミノルタ株式会社